Iranian Journal of Field Crops Research
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

Research Article
Vol. 22, No. 3, Fall 2024, p. 261-276

Investigating the Changes of Some Agronomic and Biochemical Characteristics of *Thymus vulgaris* L. with Application of Mycorrhizal Species and Foliar Spraying Humic Acid

M. Taheri Asghari[1*], S. R. Miralizadeh Fard[2]

1- Assistant Professor, Department of Agriculture, Payam Noor University, Tehran, Iran
2- Instructor, Department of Agriculture and Environment, Payam Noor University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: mehdi.t.a@pnu.ac.ir)

Received: 03 December 2023 Revised: 02 May 2024 Accepted: 07 May 2024 Available Online: 31 July 2024	**How to cite this article:** Taheri Asghari, M., & Miralizadeh Fard, S. R. (2024). Investigating the Changes of Some Agronomic and Biochemical Characteristics of Thymus vulgaris L. with Application of Mycorrhizal Species and Foliar Spraying Humic Acid. *Iranian Journal of Field Crops Research, 22*(3), 261-276. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jcesc.2024.85678.1281

Introduction

Garden thyme (*Thymus vulgaris* L.), is a small perennial plant native to the Mediterranean region that is now found worldwide. It is commonly used as a culinary herb and for medicinal purposes as well (Silva *et al.*, 2021). Thymol is one of the main and active chemical compounds of thyme. It has been shown to have antibacterial, antifungal and antiviral properties and is often used as a natural preservative in food and cosmetic products (Hammoudi *et al.*, 2022). Golubkina *et al*. (2020) reported that the use of mycorrhizal fungi as a technology that is compatible with the environment and by increasing plant access to nutrients and increasing resistance to stresses as well as improving water absorption, can lead to improved plant growth. Today, the use of organic compounds such as humic acid can affect many morphological, physiological and biochemical processes of plants and lead to improvement in plant growth (Mousavi *et al.*, 2022).

Materials and Methods

In order to investigate the effects of foliar application of humic acid fertilization and mycorrhizal fungi symbiosis on *Thymus vulgaris* L., a factorial layout has been applied, based on a randomized complete block design with three replications at the field of the research farm of Islamic Azad University, Takestan Branch during 2020-2021 and 2021-2022 growing seasons. Experimental factors included three species of mycorrhiza fungi (control, *Glomus mosseae*, *G.etunicatum* and *G.intradices*) and humic acid fertilizer levels included (control, 150 and 300 mg.L^{-1}). Important traits such as plant height, herbal fresh weight, essential oil percentage, and yield, flavonoid content, root colonization percentage, thymol and carvacrol percentage were measured and analyzed.

Results and Discussion

The results showed that the effects of the treatments were significant at the 1% level for all investigated traits. For the characteristics of essential oil percentage and essential oil yield, the interaction effect was also significant at 1%, with an observed increase of over 200%. The application of 300 mg/liter humic acid resulted

https://doi.org/10.22067/jcesc.2024.85678.1281

in a 14% increase in root colonization and a 16% increase in flavonoid percentage. Similarly, the application of mycorrhiza increased these traits by 23% and 30%, respectively. Thymol and carvacrol were the most abundant essential oil compounds. It can be concluded that the quality of thyme essential oil improved under the treatments. Among the mycorrhizae used in this research, G. mosseae mycorrhizae were more effective than the other two types. The results suggest that the application of mycorrhiza has a more significant impact on improving the examined traits compared to humic acid.

Conclusion

Based on the results of this study, application of mycorrhiza due to creating a symbiotic relationship with the roots of the garden thyme plant and humic acid spraying could increase the quantity and quality of the produced product. mycorrhiza was better than the use of humic acid in most treatments.

Keywords: Carvacrol, Essential oil percentage, Essential oil yield, Flavonoid, Thymol

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۲۲، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۳، ص ۲۷٦-۲٦۱

بررسی تغییرات برخی خصوصیات زراعی و بیوشیمیایی گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) با کاربرد گونه‌های مایکوریزا و محلول‌پاشی اسید هیومیک

مهدی طاهری اصغری[1*]، سید رضا میرعلیزاده فرد[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک و کاربرد قارچ مایکوریزا بر گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، طی سال‌های زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ و ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان اجرا شد. عوامل آزمایشی شامل سه گونه قارچ مایکوریزا (شاهد، *Glomus mosseae*، *G.etunicatum* و *G. intraradices*) و سطوح کود اسید هیومیک (شاهد، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. نتایج نشان داد در تمامی صفات مورد بررسی اثر تیمارها معنی‌دار شد. اثر متقابل مایکوریزا و اسید هیومیک بر درصد و عملکرد اسانس معنی‌دار شد و افزایش بیش از ۲۰۰ درصد مشاهده شد. کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به‌ترتیب باعث افزایش ۱۴ و ۱۶ درصدی میزان کلونیزاسیون ریشه و درصد فلاونوئید نسبت به شاهد شد و کاربرد مایکوریزا به‌ترتیب افزایش ۲۳ و ۳۰ درصدی در این صفات شد. در ترکیبات اسانس نیز دو ماده تیمول و کارواکرول بیشترین مقدار را داشتند و با اعمال تیمار اسید هیومیک به‌ترتیب ۱۲ و ۱۶ درصد و با اعمال تیمار مایکوریزا به‌ترتیب ۱۹ و ۲۷ درصد افزایش در این صفات مشاهده شد و از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که کیفیت اسانس آویشن تحت اعمال تیمارها بهبود پیدا کرده است. در بین مایکوریزاهای مورد استفاده در این پژوهش نیز کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* کاراتر از دو مایکوریزای دیگر بر صفات مورد بررسی اثرگذار بود. نتایج موجود حاکی از آن است که کاربرد مایکوریزا نسبت به اسید هیومیک اثر بیشتری بر بهبود صفات مورد بررسی داشته است.

واژه‌های کلیدی: تیمول، درصد اسانس، عملکرد اسانس، فلاونوئید، کارواکرول

مقدمه

آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) یک گیاه کوچک چند ساله بومی منطقه مدیترانه است که اکنون در سراسر جهان یافت می‌شود. معمولاً به عنوان یک گیاه ادویه‌ای و دارویی استفاده می‌شود (Silva *et al*., 2021). آویشن حاوی انواع ترکیبات شیمیایی است که به آن طعم و عطر خاصی می‌بخشد (Stefanaki & Andel, 2021). از ترکیبات شیمیایی اصلی آویشن می‌توان به تیمول اشاره کرد. تیمول یکی از فراوان‌ترین و فعال‌ترین ترکیبات موجود در آویشن است که دارای خواص ضد باکتری، ضد قارچی و ضد ویروسی است و اغلب به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و محصولات آرایشی استفاده می‌شود (Hammoudi Halat, Krayem, Khaled, & Younes, 2022). بیش از ۸۰ درصد از گونه‌های گیاهی مانند گونه‌های متعلق به Fabaceae (Weisany, Raei, Salmasi, & Sohrabi, & Ghassemi-Golezani, 2016)، Asteraceae (Kapoor, Chaudhary, & Bhatnagar, 2007) و Lamiaceae (Tarraf, Ruta, Tagarelli, De Cillis, & De Mastro, 2017) با قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار (AM = Arbuscular mycorrhiza) می‌توانند رابطه همزیستی داشته باشند. گلوبکینا و همکاران (Golubkina *et al*., 2020) گزارش دادند که کاربرد قارچ‌های مایکوریزا به‌عنوان یک فناوری سازگار با محیط‌زیست است و با افزایش دسترسی گیاه به عناصر غذایی و افزایش مقاومت در برابر تنش‌ها و همچنین بهبود جذب آب، می‌توانند منجر به بهبود رشد

۱- استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲- مربی، گروه کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mehdi.t.a@pnu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jcesc.2024.85678.1281

گیاهان شود. قارچ‌های مایکوریزا قادر به ایجاد رابطه همزیستی با ریشه اکثر گیاهان زراعی بوده و از طریق افزایش در جذب عناصر غذایی، افزایش در جذب آب، افزایش مقاومت گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا و کاهش اثرات منفی تنش‌های زیستی و غیرزیستی موجب بهبود رشد و عملکرد گیاهان میزبان می‌شوند (Akbari, Rostami, Ghabooli, & Movahedi, 2021). ایجاد رابطه همزیستی قارچ‌های مایکوریزا می‌تواند یک رابطه‌ی اکوفیزیولوژیکی باشد که میزان موفقیت آن در گرو برآیند اثرات نوع قارچ، گیاه و محیط‌زیست گیاه باشد (Sabbagh, Sarafraz, Taheri, & Bolok, 2020). امانی ماچیانی و همکاران (Amani Machiani, Javanmard, Ostadi, Aghaee, & Rasouli, 2021b) در تحقیقات خود روی گیاه آویشن باغی بیان کردند که غلظت عناصر روی، آهن، فسفر، نیتروژن، پتاسیم و منیزیم به‌ترتیب با مقادیر ۱۱/۸، ۲۰/۶، ۲۴/۷، ۱۷/۴، ۲۰/۹ و ۱۸/۲ درصد با کاربرد قارچ مایکوریزا *Funneliformis mosseae* نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در تحقیق حقیر ابراهیم آبادی و همکاران (Haghir Ebrahimabadi, Hatami, Karimzadeh Asl, & Ghorbanpour, 2018) اثر مایکوریزا بر درصد و عملکرد اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) مورد بررسی قرار گرفت و آن‌ها بیان کردند که بیشترین درصد و عملکرد اسانس و بیشترین درصد ترکیبات اصلی اسانس از تیمار کاربرد مایکوریزا *G. hoi* و *G. mosseae* به‌دست آمد. سعدی مقدم و همکاران (Saadi Moghaddam, Javanmard, Morshedloo, & Nouraein, 2020) با کاربرد مایکوریزا بر گیاه بالنگوی شهری (*Lallemantia iberica*) بیان کردند که کاربرد تلفیقی ۵۰ درصد کود شیمیایی به همراه قارچ‌های مایکوریزا علاوه بر کاهش مصرف کودهای شیمیایی به بهبود کمیت و کیفیت اسانس بالنگو منجر گردید. در پژوهشی دیگری که بر گیاه آویشن باغی انجام شد، مشخص گردید گیاه آویشن باغی قادر به همزیستی با قارچ مایکوریزا بود. آن‌ها بیان کردند که این رابطه همزیستی با گونه *G. mosseae* بیشتر از گونه‌ی *G. intraradices* بود (Azimi, Jangju, & Asghari, 2014). المیدا و همکاران (Almeida, Alberton, Otênio, & Carrenho, 2020) با بررسی رابطه همزیستی گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) با مایکوریزا دریافتند که قارچ مایکوریزا موجب افزایش در عملکرد ماده خشک، بهبود عملکرد اسانس و ترکیبات آن شد.

امروزه استفاده از ترکیبات آلی همچون هیومیک اسید می‌تواند در بسیاری از فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان تاثیر داشته و منجر به بهبود در رشد گیاهان شود (Mousavi, Barzegar, Nekounam, Ghahremani, & Khani, 2022). مواد هیومیک، موادی هستند که از تجزیه بقایای گیاهی، حیوانی و میکروبی و از فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌های خاک، به‌وجود آمده‌اند. این ترکیبات دارای خواص محرک زیستی هستند و برای کاهش استفاده از کودهای شیمیایی برای دستیابی به تولید مواد غذایی پایدارتر مورد استفاده قرار می‌گیرند (Monda, McKenna, Fountain, & Lamar, 2021). این کود احتمالاً باعث فراهمی بیشتر عناصر غذایی شده و نهایتاً منجر به افزایش وزن گیاه و مواد مؤثره آن می‌شود (Doskocil, Szewieczková, Enev, Kalina, & Wasserbauer, 2018). اسید هیومیک می‌تواند باعث افزایش در فعالیت زیستی، ممانعت از آب‌شویی نیتروژن، حفظ عناصر غذایی خاک، افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک و افزایش در کارایی مصرف آب شود (Alizadeh, Najafi, Hadian, & Salehi, 2018). اسید هیومیک یک کلوئید آبدوست، یک مخلوط پلیمری با بار منفی است که به دلیل اسیدیته ضعیف، آب دوستی، کلوئیدی، جذب، تبادل یونی، کمپلکس شدن و فعالیت فیزیولوژیکی می‌توانند با بسیاری از مواد آلی و معدنی تعامل داشته باشد (Al-Saif, Sas-Paszt, Awad, & Mosa, 2023). عزیزی و صفایی (Azizi & Safaii, 2017) در تحقیق خود بر گیاه سیاه‌دانه، بیان کردند که محلول‌پاشی با اسید هیومیک با غلظت شش میلی‌گرم در لیتر بر عملکرد دانه و بیولوژیک و میزان و عملکرد اسانس اثر معنی‌داری داشت. گزارش شده که محلول‌پاشی با اسید هیومیک می‌تواند منجر به افزایش در مقدار اسانس و کلروفیل کل در مرزه (*Satureja hortensis*) شود (Yadegari, 2022a). علوی اصل و همکاران (Alavi Asl, Majidian, Modares Sanavy, & Esfahani, 2023) در پژوهش خود بر گیاه نعناء فلفلی (*Mentha piperita* L.) گزارش دادند که محلول‌پاشی یک، دو و سه درصد اسیدهیومیک، درصد اسانس به‌ترتیب ۳۲/۲۵، ۶۲/۰۵ و ۷۲/۳۵ درصد افزایش یافت و افزایش غلظت محلول‌پاشی اسید هیومیک از صفر تا سه درصد، افزایش ۶۹/۲۸ درصدی را در عملکرد اسانس باعث شد. بررسی‌ها نشان داد، کاربرد اسید هیومیک در گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) باعث افزایش در وزن تر و خشک گیاه، محتوی کلروفیل کل، ارتفاع گیاه، کاروتنوئید و میزان اسانس در این گیاه شد (Mafakheri & Asghari, 2018). در تحقیق دیگری که اثر اسید هیومیک بر گیاه آویشن را مورد بررسی قرار داده بودند، بیان شد که حداکثر درصد اسانس در سطح سوم آبیاری (شش روز یک‌بار) با کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک به‌دست آمد (Gorgini Shabankareh, Khorasani nejad, Sadeghi, & Tabasi, 2018). هدف از انجام این آزمایش بررسی تاثیر همزمان استفاده از قارچ‌های مایکوریزا و اسید هیومیک در جهت بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک و کاربرد قارچ مایکوریزا بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، طی سال‌های زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۴۲ دقیقه شرقی و ۱۲۶۵ متر ارتفاع از سطح دریا اجرا شد. عوامل آزمایشی شامل سه گونه قارچ مایکوریزا (شاهد، *Glomus mosseae*، *Glomus.etunicatum* و *Glomus. intraradices*) و سطوح کود اسید هیومیک (شاهد، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. گونه‌های قارچ مایکوریزا از کلینیک گیاه‌پزشکی ارگانیک واقع در اسدآباد همدان تهیه شده و در هر گرم آن، تعداد ۱۲۰ اسپور قارچ مایکوریزا وجود داشت. اسید هیومیک مورد استفاده نیز با نام تجاری سوپر هیومیک بود. برخی از ویژگی‌های خاک محل آزمایش و اسید هیومیک مورد استفاده در آزمایش، در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک مزرعه از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر
Table 1- Some chemical characteristics of field soil from 0 to 30 cm depth

بافت خاک Soil texture	ماسه Sandy (٪)	سیلت Silt (٪)	رس Clay (٪)	پتاسیم K (mg.kg^{-1})	فسفر P (mg.kg^{-1})	نیتروژن N (٪)	کربن آلی Organic carbon (٪)	مواد خنثی‌شونده Neutralizing materials (٪)	هدایت الکتریکی خاک EC (dS.m^{-1})	pH
لوم رسی شنی Sandy clay loam	60	18	22	141	5.9	0.03	0.32	5.2	2.38	7.5

جدول ۲- مشخصات اسید هیومیک مورد استفاده در این آزمایش
Table 2- Characteristics of humic acid used in this experiment

نام تجاری Commerical name	مس Cu mg.kg^{-1}	منیزیم Mg mg.kg^{-1}	مواد آلی Organic matter (٪)	اسید هیومیک Humic acid (٪)	آمینو اسید Amino acid (٪)	پتاسیم K (٪)	فسفر P (٪)	کلسیم Ca (٪)	آهن Fe mg.kg^{-1}	نیتروژن N (٪)	بور B mg.kg^{-1}	روی Zn mg.kg^{-1}	ویتامین Vitamin (٪)
سوپر هیومیک	23	12	92	37	6	12	0.05	3	2500	2	10	410	0.7

عملیات کاشت آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L) به‌صورت نشاءکاری انجام شد. نشاءها با استفاده از بذور تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان در ابتدای بهار در خزانه تولید شدند و پس از تهیه زمین و رسیدن نشاءها به ارتفاع حدود ۱۰ تا ۱۲ سانتی‌متر در اوایل خرداد هر دو سال زراعی مورد آزمایش، به کرت‌های آزمایش منتقل شدند. برای ممانعت از تنش، بلافاصله بعد از کاشت عملیات آبیاری صورت گرفت و آبیاری دوم نیز سه روز بعد انجام شد. یک هفته پس از کاشت، تمام کرت‌ها بازبینی شده و در فضاهای خالی عملیات واکاری انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز در چندین مرحله به‌صورت وجین دستی انجام گرفت. قبل از کاشت و بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمون خاک، از کودهای فسفات آمونیوم و سولفات پتاسیم به‌ترتیب با مقادیر ۱۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و یک سوم کود اوره (۳۵ کیلوگرم در هکتار) استفاده و با خاک مخلوط شد. دو قسمت باقی‌مانده کود اوره نیز در مراحل پایان تنک کردن و قبل از گلدهی به کرت‌ها داده شد. در هر کرت پنج خط کاشت به طول چهار متر با فواصل ردیف ۴۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بین کرت‌ها به جهت عدم اختلاط در آن‌ها نیم متر فاصله و بین تکرارها نیز دو متر فاصله قرار گرفت. قبل از کاشت، از خاک حاوی هیف‌های قارچ میکوریزا (حدود ۱۲۰ اسپور در هر گرم خاک) در خطوط کاشت و زیر نشاءها به مقدار ۸۰ گرم در هر ردیف کاشت استفاده شد. هیومیک اسید در غلظت‌های مشخص‌شده در طرح، با اسپری دستی و به‌صورت کود آبیاری و در سه مرحله محلول‌پاشی شد. مرحله اول محلول‌پاشی، زمانی که گیاهان در مرحله چهار تا شش برگی بودند و مرحله دوم و سوم آن به فاصله ۱۰ روز یک بار انجام شد.

جهت اندازه‌گیری صفات با در نظر گرفتن اثر حاشیه، به‌طور تصادفی ۱۰ گیاه از هر کرت انتخاب شد و صفات کمی شامل محتوای نسبی آب، ارتفاع گیاه، وزن تر گیاه، درصد کلونیزاسیون ریشه، عملکرد ماده خشک (کیلوگرم در هکتار) و صفات کیفی شامل میزان فلاونوئید، میزان تیمول و کارواکرول، میزان و عملکرد اسانس اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری درصد اسانس، اسانس‌گیری از ۵۰ گرم نمونه گیاهی خشک‌شده در شرایط محیطی (برداشت‌شده از پیکره رویشی حاوی سرشاخه‌های گلدار در زمان گلدهی) (Csongor *et al.*,

2023) به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر (مدل فاراماکوپه بریتانیا) در مدت زمان سه ساعت انجام شد. اسانس‌ها پس از استخراج رطوبت‌زدایی شدند. درصد اسانس موجود در نمونه‌ها نسبت به وزن خشک گیاه به‌صورت وزنی وزنی محاسبه شد (Siddiqui, Oad, & Jmaro, 2006). برای اندازه‌گیری عملکرد اسانس میزان عملکرد خشک گیاه در درصد اسانس ضرب شد و به صورت کیلوگرم در هکتار بیان شد (Saadi Moghaddam *et al.*, 2020). برای اندازه‌گیری تیمول و کارواکرول از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7990B ساخت کشور آمریکا با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون 5MS-VF استفاده شد. دمای تزریق و آشکارساز به‌ترتیب روی ۲۳۰ و ۲۴۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه و نسبت تقسیم ۱:۲۴مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های اسانس به نسبت یک به صد در هگزان، رقیق‌سازی و به‌میزان یک میکرولیتر به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. نهایتاً، شناسایی ترکیب‌های اصلی اسانس با مقایسه زمان بازداری آن‌ها با زمان بازداری استانداردهای خالص به‌دست آمد (Morshedloo, Maggi, Neko, & Aghdam, 2018).

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)، وزن تر نمونه‌های برگ تهیه شد و سپس نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور شده و پس از این حالت نیز نمونه‌ها توزین شدند. نمونه‌ها، ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک آن‌ها محاسبه گردید (Sanchez, Manzanares, de Andres, Tenorio, & Ayerbe, 1998). با استفاده از رابطه (۱) محتوای نسبی آب برگ محاسبه شد.

$$RWC = \left[\frac{FW-DW}{TW-DW}\right] * 100 \qquad (۱)$$

که دراین معادله FW وزن تر نمونه‌ها، DW وزن خشک نمونه‌ها و TW وزن نمونه‌های آماس‌کرده در آب مقطر را نشان می‌دهد. برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل، یک میلی‌گرم عصاره با چهار سی‌سی آن مقطر مخلوط و ۳۰۰ میکرولیتر نیتریت سدیم پنج درصد به آن اضافه شد. پس از پنج دقیقه ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ده درصد اضافه و پس از شش دقیقه، چهار سی‌سی سود نیم نرمال اضافه شد. در نهایت جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد (Zhishen, Mencheng, & Jianming, 1999). از هر نمونه مقدار ۵۰ گرم گیاه خشک آماده و پس از قرار دادن در اتانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. عصاره‌های تهیه‌شده فیلترشده و با استفاده از روش پرکولاسیون عصاره‌گیری و با روش تقطیر در خلاء تغلیظ گردیدند. عصاره‌های خشک‌شده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Mortazaei, Rafieian, Ansary Samani, & Shahinfard, 2012). جهت اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه، ریشه‌های نازک و جوان، در مرحله گل‌دهی، انتخاب شده و در مخلوط آب مقطر و الکل اتیلیک قرار گرفت (Arjmand Alavi, Hatamzadeh, & Ehteshami, 2014). ریشه‌ها پس از خارج شدن از مخلوط ۵۰٪ آب مقطر و ۵۰٪ الکل اتیلیک، ۳ الی ۴ بار با آب معمولی شستشو شدند. آن‌گاه به مدت نیم ساعت در داخل هیدروکسید پتاسیم ۸ تا ۱۰٪ به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفته و به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر قرار داده شدند. پس از خروج از اتوکلاو، نمونه‌ها ۳ الی ۴ بار با آب معمولی شسته شدند. سپس ریشه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول آب اکسیژنه دو درصد قرار گرفتند. پس از آن، مجدداً نمونه‌ها با آب معمولی شسته شده و سپس به مدت یک دقیقه در داخل اسید کلریدریک ۱٪ غوطه‌ور شدند. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از اسید، در محلول تریپان‌بلو (به نسبت ۱:۱:۱اسید لاکتیک- گلیسرول- آب مقطر و ۰/۰۵ درصد وزنی-حجمی تریپان‌بلو) به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از این مدت، ریشه‌ها از محلول تریپان‌بلو خارج شده و با استفاده از روش (Kormanik & McGraw, 1982) درصد کلونیزه شدن ریشه مشخص شد. تعدادی از این ریشه‌ها به‌صورت تصادفی انتخاب شده و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند و با استفاده از رابطه (۲) درصد کلونیزاسیون تعیین شد.

$$\text{درصد کلونیزاسیون} = \frac{\text{تعداد قطعات ریشه آلوده شده به قارچ}}{\text{تعداد کل قطعات ریشه مطالعه شده}} \times 100 \qquad (۲)$$

نتایج حاصل توسط نرم‌افزار SAS (نسخه 9.1.3) به‌صورت مرکب مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن تر و ارتفاع گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا در سطح یک درصد (P<0.01) بر وزن تر و ارتفاع گیاه معنی‌دار بود و تفاوتی نیز بین سال‌های آزمایش وجود نداشت. بیشترین مقدار وزن تر گیاه از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک به‌دست آمد که نسبت به شاهد ۲۵ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). صبوری و همکاران (Sabouri, Sirousmehr, & Gorgini Shabankareh, 2018) با آزمایش خود بر روی گیاه دارویی مرزه (*Satureia hortensis*) بیان کردند که بیشترین وزن تر گیاه از تیمار محلول‌پاشی با ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک در شرایط آبیاری صد درصد ظرفیت زراعی به‌دست آمد. همچنین بیشترین ارتفاع گیاه نیز از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک بدست آمد که با تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در لیتر در گروه آماری

مشابه قرار گرفت (جدول ۴). نتایج مشابهی در خصوص افزایش ارتفاع گیاه با کاربرد اسید هیومیک در گیاه آویشن (Gorgini Shabankareh *et al*., 2018) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) (Nasiri Dehsorkhi, Makarian, Varnaseri Ghandali, & Salari, 2018) ارائه شده است.

نتایج نشان داد بیشترین وزن تر گیاه از تیمار کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* به‌دست آمد که با تیمار شاهد ۱۴ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۴). تبریزی و همکاران (Tabrizi, Mohammadi, Delshad, & Moteshare Zadeh, 2015) در آزمایش خود بر روی گیاه دارویی رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) بیان کردند که بیشترین میزان وزن تر گیاه در شرایط تلقیح با مایکوریزا به‌دست آمد. همچنین بیشترین ارتفاع گیاه نیز از تیمار کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* به‌دست آمد که با تیمار شاهد ۱۹ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۴). کاربرد مایکوریزا باعث افزایش ۱۰/۵ درصدی در ارتفاع بوته آویشن نسبت به عدم کاربرد آن شد (Amani Machiani, Javanmard, Ostadi, Morshedlou, & Chabokpour, 2021a). کاربرد قارچ مایکوریزا می‌تواند ارتفاع گیاه دارویی آویشن را نسبت به عدم کاربرد آن افزایش دهد. این افزایش در ارتفاع گیاه را می‌توان به جذب بهتر عناصر غذایی همچون فسفر، نیتروژن، مس، پتاسیم و آمونیم، نسبت داد که منجر به بهبود صفات عملکردی و رشدی همچون ارتفاع بوته می‌گردد (Baum, El-Tohamy, & Gruda, 2015). سازوکار افزایش در وزن تر و خشک گیاه احتمالاً بدین صورت است که بخشی از ریسه‌های مایکوریزا وارد سیستم ریشه شده و باعث کاهش غلظت اسید آبسیزیک شده و از سویی باعث افزایش در غلظت سیتوکنین‌ها شده که این امر موجب گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش در جذب مواد غذایی و همچنین آب شود. از سویی دیگر میسلیوم‌های خارج از ریشه نیز با ترشح اسیدهای آلی حل‌کننده فسفات‌های نامحلول همچون مالیک اسید در ریزوسفر، جذب فسفر در گیاه را افزایش داده و در نتیجه این فعل و انفعالات، صفات مورفولوژیکی گیاه آویشن باغی از جمله وزن تر گیاه بهبود یافته است. اسید هیومیک نیز از راه اثرات هورمونی و تحت تاثیر قرار دادن متابولیسم سلول‌های گیاهی و از سویی دیگر با قدرت کلات‌کنندگی و افزایش در جذب مواد غذایی باعث افزایش در ارتفاع گیاه می‌شود (Azizi & Safaii, 2017). اسید هیومیک می‌تواند باعث افزایش در میزان نیتروژن در دسترس گیاه شود و در افزایش رشد اندام‌های هوایی گیاه در شرایط محیطی مناسب، با فراهم آوردن جذب بیشتر مواد غذایی موثر واقع شود و در افزایش مقدار وزن تر و ارتفاع گیاه موثر واقع شود.

محتوای نسبی آب

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا در سطح یک درصد ($P<0.01$) بر محتوای نسبی آب معنی‌دار شد و تفاوتی نیز بین سال‌های آزمایش وجود نداشت. بیشترین مقدار محتوای نسبی آب از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک به‌دست آمد که نسبت به شاهد ۱۱ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۴). گرگینی و همکاران (Gorgini Shabankareh *et al*., 2018) در تحقیقات خود بر گیاه دارویی آویشن بیان کردند که کاربرد اسید هیومیک در هر دو سطح ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش به‌ترتیب ۵/۸ و ۷/۳ درصدی محتوای نسبی آب نسبت به تیمار شاهد شد. بررسی نتایجی که از این پژوهش به‌دست آمد، نشان داد که کاربرد اسیدهیومیک از یک سو باعث بهبود در خواص فیزیکی خاک و ایجاد فضای بیشتر برای نفوذ آب شده و از سویی دیگر احتمالاً با ایجاد پیوند با مولکول‌های آب و ممانعت از تبخیر آب، باعث افزایش در محتوای نسبی آب برگ می‌گردد (Nasiri Dehsorkhi, Makarian, Varnaseri Ghandali, & Salari, 2018).

نتایج نشان داد بیشترین محتوای نسبی آب از تیمار کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* به‌دست آمد که با تیمار شاهد ۱۳ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۴). کاربرد قارچ مایکوریزا محتوای نسبی آب برگ (RWC) را در گیاه آویشن ۱۰/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (Amani Machiani *et al*., 2021b). دلیل این افزایش در میزان محتوای نسبی آب با کاربرد قارچ مایکوریزا را می‌توان به ایجاد شبکه‌های گسترده هیف قارچ بر روی ریشه دانست که باعث افزایش در دسترس ریشه به رطوبت و عناصر غذایی دانست (Zhang, Zou, & Wu, 2018). بوتاسکنیت و همکاران (Boutasknit *et al*., 2020) نیز بیان کردند که وجود رابطه همزیستی قارچ با ریشه گیاهان باعث بهبود در هدایت هیدرولیکی آب به داخل ریشه شده و نهایتاً منجر به افزایش در محتوای نسبی آب در سلول‌های گیاهی می‌شود. هیف‌های قارچی از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، مقاومت انتقال آب به درون ریشه را کاهش داده و از این طریق منجر به افزایش جذب آب خواهند شد. همچنین مایکوریزا احتمالاً از راه تغییر مورفولوژی ریشه گیاه و طویل کردن سیستم ریشه و افزایش سطح جذب از راه ریسه‌های قارچ، آب بیشتری جذب و باعث بهبود در روابط آبی گیاه میزبان می‌شود (Auge, Stodola, Tims, & Saxton, 2001).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گیاه آویشن

Table 3- Analysis of variance of the effect of humic acid and mycorrhiza treatments on Some quantitative and qualitative characteristics of (*Thymus vulgaris* L.)

منابع تغییر SOV	درجه آزادی df	وزن تر گیاه Plant fresh weight	ارتفاع گیاه Plant height	محتوای نسبی آب (RWC)	درصد کلونیزاسیون Colonization percentage	فلاونوئید Flavonoid	درصد کارواکرول Carvacrol	درصد تیمول Thymol percentage	عملکرد ماده خشک Dry matter yield	درصد اسانس Essential oil	عملکرد اسانس Essential oil yield
سال (Year)	1	1144836 ns	4.500 ns	2.722 **ns**	2.00 ns	0.006 ns	0.568 ns	11.64 ns	329.388 ns	0.125 *	78.00 ns
تکرار	2	296533 ns	73.62 **	170.791 **	84.500 **	0.003 ns	5.940 **	74.48 **	9011.62 **	0.116 *	128.781 **
سال در تکرار	2	710411 ns	22.87 **	0.097 **ns**	38.00 *	0.001 ns	0.263 ns	5.88 ns	138.84 ns	0.070 ns	52.47 ns
اسید آمینه (A)	2	41603375 **	58.04 **	434.625 **	363.500 **	0.071**	41.303 **	158.69 **	145422.54 **	0.952 **	1157.52 **
مایکوریزا (M)	3	9003598 **	73.500 **	450.259 **	615.370 **	0.210 **	64.767 **	259.25 **	201267.22 **	6.064 **	5567.75 **
M * A	6	466328 ns	4.09 ns	27.217 **ns**	12.537 ns	0.004 ns	0.707 ns	2.52 ns	22096.48 **	0.114 **	98.88 **
Year *A	2	162995 ns	20.04 **	17.763 **ns**	32.666 ns	0.0005 ns	0.440 ns	6.20 ns	247.597 ns	0.026 ns	14.64 ns
Year * M	3	313780 ns	1.42 ns	18.166 **ns**	3.740 ns	0.0033 ns	0.120 ns	7.09 ns	2668.537 *	0.247 **	179.02 **
Year * M* A	6	187465 ns	1.24 ns	34.208 **ns**	20.407 ns	0.0006 ns	0.420 ns	3.09 ns	1194.800 ns	0.018 ns	17.63 ns
error	44	285745	2.11	13.929	11.17	0.002	0.351	5.56	779.509	0.027	21.20
C.V(%)		4.5	5.7	5.2	6.4	7. 7	4.1	5. 8	1.1	6.7	7.0

*و ** به‌ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار است و ns معنی‌دار نمی‌باشد.

* and ** are significant at the level of five and one percent, and ns is not significant, respectively.

جدول ٤- اثر تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گیاه آویشن

Table 4- The effect of humic acid and mycorrhiza treatments Some quantitative and qualitative characteristics of (*Thymus vulgaris* L.)

		محتوای نسبی آب (RWC) (٪)	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	وزن تر گیاه Fresh Weight ($kg.ha^{-1}$)	درصد کلونیزاسیون ریشه Root colonization percentage (٪)	میزان فلاونوئید Flavonoid (٪)
سال Year	1	71.97 a	25.16 a	11661.3 a	52.50 a	0.66 a
	2	72.36 a	25.66 a	11913.5 a	52.16 a	0.66 a
اسید هیومیک Humic acid	کنترل (Control)	68.41 c	23.62 b	10430.6 c	48.25 c	0.60 c
	۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر ($150\ mg.L^{-1}$)	71.29 b	26.20 a	11871.8 b	52.75 b	0.65 b
	۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ($300\ mg.L^{-1}$)	76.79 a	26.41 a	13059.8 a	56.00 a	0.71 a
مایکوریزا Mycorrhiza	کنترل (Control)	68.61 c	23.50 c	11074.0 c	44.72 d	0.56 c
	Glomus mosseae	79.05 a	27.94 a	12633.7a	58.00 a	0.60 b
	G.etunicatum	68.33 c	24.11 c	11355.8 c	51.00 c	0.63 b
	G. intraradices	72.66 b	26.11 b	12086.1 b	55.61 b	0.81 a

* میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

*Means those followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% of probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا در سطح یک درصد ($P<0.01$) بر درصد کلونیزاسیون ریشه معنی‌دار شد و تفاوتی نیز بین سال‌های آزمایش وجود نداشت. بیشترین مقدار درصد کلونیزاسیون ریشه از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد که نسبت به شاهد ۱۴ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۴). اکبری و غلامی (Akbari & Gholami, 2016) در آزمایش خود بر گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) بیان کردند که اسید هیومیک بر درصد کلونیزاسیون ریشه اثر داشته و باعث افزایش پنج درصدی این صفت شد. احمدزاده و همکاران (Ahmadzadeh *et al.*, 2021) نیز در تحقیق خود بر ذرت، بیان کردند که کاربرد توام اسید هیومیک و قارچ‌های مایکوریزا بیشترین تاثیر را بر افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه نشان داد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده چنین می‌توان گفت که با کاربرد اسید هیومیک، فراهمی مواد غذایی که می‌توانند در اختیار گیاه قرار داده شود افزایش یافته و از سویی با اثراتی که اسید هیومیک بر پایداری خاک‌دانه‌ها و رطوبت ظرفیت مزرعه دارد (Naji, Babaakbari Sari, Vaezi, & Ahmadi, 2020) شرایط را برای فعالیت میکروارگانیسم‌هایی همچون مایکوریزا فراهم کرده و باعث افزایش در درصد کلونیزاسیون ریشه می‌گردد.

نتایج نشان داد بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه از تیمار کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۲۳ درصد افزایش داشت (جدول ۴). اکبری و غلامی (Akbari & Gholami, 2016) در آزمایش خود بر گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) بیان کردند که بین تلقیح مایکوریزا و عدم تلقیح، تفاوت معنی‌داری دیده شد به‌طوری‌که درصد همزیستی ریشه در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد ۵۰ درصد افزایش را نشان داد. نتایج تحقیق عظیمی و همکاران (Azimi *et al.*, 2014) نشان داد که درصد کلونیزه شدن ریشه در گیاه دارویی آویشن باغی در شرایط تلقیح با گونه *G.mosseae* در حدود ۹۲ درصد و در شرایط تلقیح با گونه میکوریزا *G.intraradices* حدود ۶۸ درصد بود. همچنین لطف‌الهی و همکاران (Lotfollahi, Bolandnazar, Aliasgharzad, Khoshru, & Siami, 2020) در پژوهش خود بر گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) بیان کردند که کاربرد مایکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد. با توجه به نتایج این تحقیق مشخص شد که گیاه آویشن باغی قادر به ایجاد رابطه همزیستی با قارچ مایکوریزا بوده و درصد همزیستی آن با گونه‌ی *G.mosseae* بیشتر از گونه‌ی *G.intraradices* بود. می‌توان چنین استنباط کرد که با تلقیح مایکوریزایی، به‌طور قابل‌توجهی جمعیت این قارچ‌ها در ریزوسفر در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرده و به همین جهت باعث بهبود در درصد کلونیزاسیون ریشه در آویشن شده است. ایجاد این رابطه

همزیستی با گیاه آویشن باغی می‌تواند اثرات مثبتی بر استقرار و رشد این گیاه داشته باشد. سهولت در استقرار اولیه گیاه آویشن باغی احتمالاً می‌تواند به دلیل فراهمی بهتر مواد مغذی همچون فسفر، نیتروژن و مواد معدنی و رطوبت و همچنین بهبود در ساختار خاک در اثر تلقیح با مایکوریزا باشد. بدین ترتیب این قارچها قادرند با تاثیر بر ریشه گیاه، حجم بیشتری از خاک را نسبت به گیاهان غیر مایکوریزایی کاوش کرده و باعث افزایش دسترسی به عناصر غذایی موجود در ناحیه ریزوسفری با حضور اسید هیومیک شوند.

درصد فلاونوئید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا در سطح یک درصد ($P<0.01$) بر درصد فلاونوئید معنی‌دار شد. تفاوتی نیز بین سال‌های آزمایش وجود نداشت. بیشترین مقدار درصد فلاونوئید از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد که نسبت به شاهد ۱۶ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۴). علیزاده احمدآبادی و همکاران (Alizadeh Ahmadabadi, Khorasaninejad, & Hemti, 2016) با آزمایش اسید هیومیک بر گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) بیان کردند که اثر اسید هیومیک فقط بر میزان فلاونوئید معنی‌دار بود به نحوی که کمترین میزان فلاونوئید در تیمار شاهد به‌دست آمد. همچنین در آزمایش دیگری حداکثر میزان فلاونوئید با میزان ۰/۱۱۵ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم، از تیمار با کاربرد هیومیک اسید با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد (Mohammadi Nia Samakoush, Moradi, & Akbarpour, 2022). مواد هیومیکی می‌توانند رشد گیاهان را با افزایش در نفوذپذیری غشای سلولی و افزایش انتقال عناصر غذایی افزایش دهند (Canellas, Olivares, Canellas, Mazzei, & Piccolo, 2019). کودهای آلی مانند هیومیک اسید می‌توانند موجب افزایش در میزان فلاونوئید در گیاه گردند. فلاونوئیدها به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی که دارند، می‌توانند به‌طور مستقیم با ورود به واکنش‌های احیایی و یا غیرمستقیم با کلات کردن عنصر آهن، از تنش اکسیداتیو ممانعت کنند (Yousefi, Enteshari, & Saadatmand, 2014).

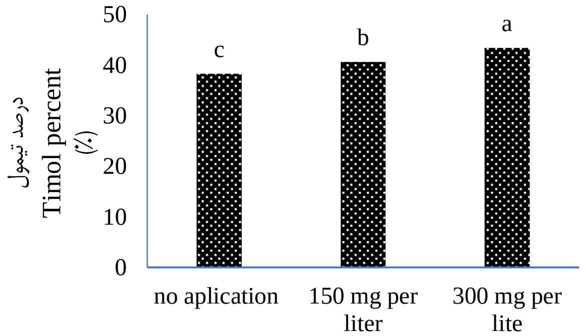
بیشترین مقدار درصد فلاونوئید از تیمار کاربرد مایکوریزا *G. intraradices* به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۳۰ درصد افزایش را نشان داد و *G.mosseae* به همراه *G.etunicatum* در مرتبه دوم قرار گرفتند (جدول ۴). یزدان پناه و همکاران (Yazdan panah gohari, Ghanbari jahromi, & Zarrin nia, 2021) در آزمایش خود بر روی گیاه دارویی کاسنی، بیان کردند که کاربرد مایکوریزا اثر معنی‌داری بر صفت فلاونوئید داشت و کاربرد مایکوریزا *G. intraradices* نسبت به *G.mosseae* کارآمدتر بود که نتیجه آن‌ها با نتیجه حاصل از انجام این آزمایش مطابقت دارد. همچنین طاهری اصغری (Taheri asghari, 2021) در آزمایش خود بر روی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalidemirs* L.) بیان کرد که تلقیح بذر با مایکوریزا گونه *G. etunicatum* باعث افزایش در میزان فلاونوئید در گیاه همیشه‌بهار شد. در این مطالعه افزایش در میزان فلاونوئید با کاربرد مایکوریزا و اسید هیومیک احتمالاً به دلیل جذب بیشتر عناصر غذایی از جمله فسفر و تامین انرژی لازم برای سنتز این ترکیبات و نقشی است که مایکوریزا در تامین مطلوب عناصر غذایی و افزایش در قابلیت در جذب آن‌ها داشته و بر مسیرهای متابولیکی اولیه گیاه به‌صورت مستقیم موثر واقع شده و در تولید متابولیت‌های ثانویه همچون فلاونوئیدها به‌صورت غیرمستقیم اثر گذاشته است.

درصد کارواکرول و درصد تیمول

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر تیمار اسید هیومیک و مایکوریزا بر درصد تیمول و کارواکرول در سطح یک درصد ($P<0.01$) معنی‌دار شد و تفاوتی نیز بین سال‌های آزمایش وجود نداشت. بیشترین مقدار درصد تیمول و کارواکرول از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد که با تیمار شاهد به‌ترتیب ۱۲ و ۱۶ درصد افزایش را نشان داد (شکل ۱ و ۳). یادگاری (Yadegari, 2022) در آزمایش خود بر روی سه گونه گیاه مرزه (*Satureja*)، بیان کرد که اسید هیومیک در ترکیب با بوتامیسول و کود کامل یوروسالید بیشترین میزان اسانس را تولید کرد و ترکیبات اصلی اسانس که شامل تیمول و کارواکرول بودند، در شرایط آبیاری رطوبت مزرعه بیشترین مقدار را داشتند. همچنین در تحقیق دیگری صفت درصد تیمول با اعمال تیمار محلول‌پاشی با ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک با دور آبیاری ۹ روزه، دارای بیشترین مقدار بود (Gorgini Shabankareh *et al.*, 2018). یادگاری (Yadegari, 2022a) در آزمایش خود بر روی سه گونه گیاه آویشن بیان کرد که با کاربرد اسید هیومیک، تیمول و کارواکرول از ترکیبات غالب اسانس در آن‌ها بودند. از عمده دلایل افزایش عملکرد توسط اسید هیومیک می‌توان به جلوگیری از آبشویی نیتروژن، افزایش در فعالیت زیستی خاک، نگهداری بیشتر رطوبت، افزایش در کارایی مصرف آب، حفظ و نگهداری عناصر غذایی خاک اشاره کرد (Doskocil *et al.*, 2018).

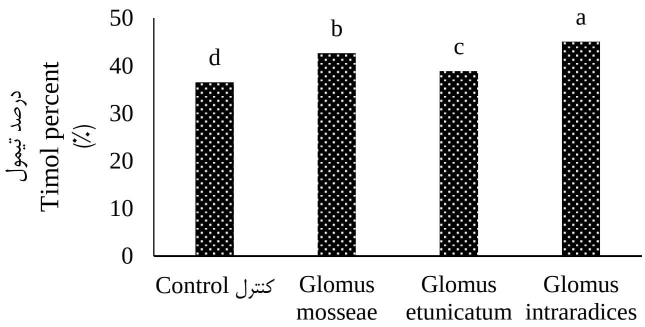
بیشترین مقدار درصد تیمول و کارواکرول از تیمار کاربرد مایکوریزا *G. intraradices* به‌دست آمد که با تیمار شاهد به‌ترتیب ۱۹ و ۲۷ درصد افزایش را نشان داد (شکل ۲ و ۴). در هر دو صفت مذکور کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* در رتبه دوم قرار گرفت (جدول ۴). در اثر کاربرد قارچ مایکوریزا میزان تیمول افزایش ۳/۸ درصدی نسبت به شاهد را نشان داد (Amani Machiani *et al.*, 2021b).

اسانس‌ها از ترکیب‌های ترپنوئیدی تشکیل شده و واحدهای سازنده در آن‌ها ایزوپرنوئیدها که شامل دی‌متیل‌آلیل پیروفسفات و ایزوپنتنیل پیروفسفات بوده، نیاز به ترکیباتی از قبیل NADPH و ATP دارند. با در نظر گرفتن این موضوع وجود عناصری مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل این ترکیبات لازم و ضروری به نظر می‌رسد و بنابراین همزیستی با مایکوریزا با جذب کارآمد فسفر و تا حدودی نیتروژن و از سویی دیگر فراهم آوردن مواد غذایی توسط اسید هیومیک، باعث افزایش درصد ترکیبات اسانس می‌گردد.



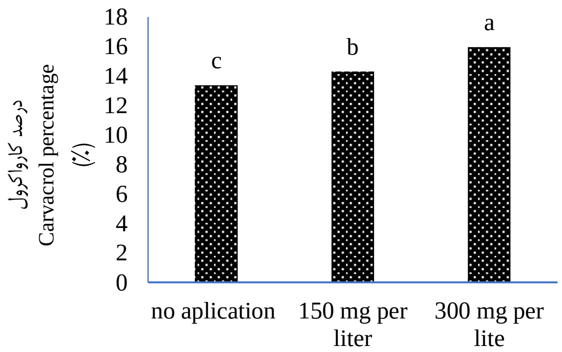
شکل ۱- اثر کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک بر درصد تیمول

Figure 1- The effect of the application of different levels of humic acid on the percentage of thymol



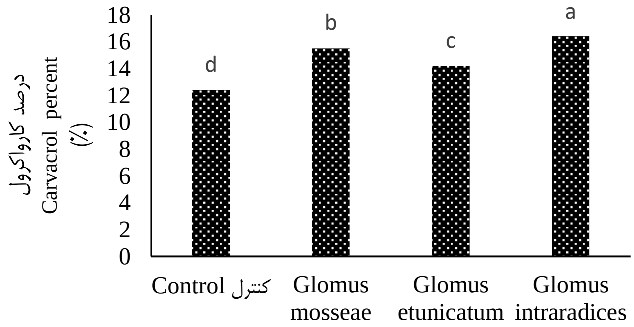
شکل ۲- اثر کاربرد سطوح مختلف مایکوریزا بر درصد تیمول

Figure 2- The effect of the application of different levels of mycorrhiza on the percentage of thymol



شکل ۳- اثر کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک بر درصد کارواکرول

Figure 3- The effect of the application of different levels of humic acid on the percentage of Carvacrol



شکل ٤- اثر کاربرد سطوح مختلف مایکوریزا بر درصد کارواکرول

Figure 4- The effect of the application of different levels of mycorrhiza on the percentage of Carvacrol

عملکرد ماده خشک

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا بر عملکرد ماده خشک در سطح یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین مقدار عملکرد از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک و کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* به‌دست آمد که با تیمار شاهد ۱۸ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۵). نصیری دهسرخی و همکاران (Nasiri Dehsorkhi *et al.*, 2018) در تحقیق خود در گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) بیان کردند که در بین سطوح محلول‌پاشی اسید هیومیک، محلول‌پاشی ۴ لیتر در هکتار، کارآمدتر بود. گزارش شده است که اسیدهیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیک از جمله اثر روی متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد در گیاهان می‌گردد (Nardi, Pizzeghello, Muscolo, & Vianello, 2002). به نظر می‌رسد استفاده از کودهای آلی نظیر اسید هیومیک، از طریق بهبود فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک، بهبود در حاصل‌خیزی، فراهمی مواد غذایی علی‌الخصوص ریزمغذی‌ها و همچنین آزادسازی تدریجی این عناصر، موجب افزایش تولید مواد پرورده در منابع شده و در نهایت می‌تواند عملکرد گیاه را افزایش دهد. همچنین اسید هیومیک می‌تواند با بهبود در جذب نیتروژن سبب افزایش در میزان انواع پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، علی‌الخصوص پروتئین‌ها و آنزیم‌های شرکت‌کننده در چرخه فتوسنتزی مانند پلاستوسیانین، سیتوکروم‌ها، فردوکسین‌ها و روبیسکو شده و از این طریق باعث افزایش در رشد

گیاه شود (Dordas & Sioulas, 2008).

امانی ماچیانی و همکـاران (Amani Machiani *et al*., 2021a) کاربرد قارچ مایکوریزا بر گیاه آویشن باغی را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که بیشترین مقدار عملکرد ماده خشک از تیمـار کـاربرد قارچ مایکوریزا به‌دست آمد. با توجه به این‌که عملکرد ماده خشـک در گیاهان دارویـی برآینـدی از صـفات مختلـف رشـدی همچـون قطـر کانوپی، ارتفاع بوته، و غیره می‌باشد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که رابطه همزیستی قارچ مایکوریزا با ریشه آویشن با بهبود صفات رشدی در گیاه از طریق بهبود در جذب رطوبت و عناصـر غـذایی و افـزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطـی در ارتبـاط مسـتقیم بـوده و منجر بـه افـزایش عملکـرد مـاده خشـک در ایـن گیاهـان مـی‌شـود (Begum *et al*., 2019).

جدول ۵- اثر متقابل تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا بر میزان و عملکرد اسانس گیاه آویشن

Table 5- Interaction effect of humic acid and mycorrhiza treatments on the amount and yield of (*Thymus vulgaris* L.) essential oil

		میزان اسانس Essential oil (٪)	عملکرد اسانس Essential oil yield (kg.ha^{-1})	عملکرد ماده خشک Dry matter yield (kg.ha^{-1})
کنترل (Control)	کنترل (Control)	1.53 c	36.41 c	2372.00 d
	G.mosseae	2.63 a	71.95 a	2730.50 a
	G.etunicatum	2.61 a	69.44 a	2652.67 b
	G. intraradices	2.25 b	55.51 b	2467.33 c
اسید هیومیک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر (Humic acid 150 mg.L^{-1})	کنترل (Control)	1.63 c	41.98 d	2570.83 c
	G.mosseae	3.31 a	92.45 a	2787.33 a
	G.etunicatum	2.75 b	73.22 b	2662.00 b
	G. intraradices	2.51 b	65.21 c	2591.17 c
اسید هیومیک ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (Humic acid 300 mg .L^{-1})	کنترل (Control)	1.88 d	49.81 d	2640.50 c
	G.mosseae	3.13 a	87.63 a	2796.50 a
	G.etunicatum	2.90 b	78.23 b	2696.83 b
	G. intraradices	2.63 c	71.21 c	2704.33 b

* میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنهای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

* Means those followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% of probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

درصد و عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثـر متقابـل تیمارهای اسید هیومیک و مایکوریزا بر درصـد و عملکـرد اسـانس در سطح یک درصـد (P<0.01) معنـی‌دار شـد. بیشـترین مقدار درصـد اسانس از تیمار ۱۵۰ میلـی‌گـرم اسـید هیومیـک و کـاربرد مـایکوریزا *G.mosseae* به‌دست آمد که بـا تیمـار شـاهد ۲۰۳ درصـد تفـاوت و افزایش را نشان داد (جـدول ۵). نتـایج نشـان داد بیشـترین عملکـرد اسانس نیز از تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک و کـاربرد مـایکوریزا *G.mosseae* به‌دست آمد که بـا تیمـار شـاهد ۲۲۰ درصـد تفـاوت و افزایش را نشان داد (جدول ۵). امانی ماچیانی و (Amani Machiani *et al*., 2021a) نتیجه گرفتند که درصد اسـانس آویشـن بـا کـاربرد مایکوریزا افزایش ۸/۵ درصدی را نشان داد. افزایش اسانس آویشن با کاربرد مـایکوریزا را مـی‌تـوان بـه افـزایش در فعالیـت فتوسـنتزی و غده‌های تشکیل‌دهنده اسانس نسبت داد که می‌تواند با دسترسی بهتر عناصر غذایی و افزایش سطح جذب مرتبط باشد و فراهم بودن عناصر مهم در ترکیب اسانس، از جمله فسفر و نیتروژن در این افزایش موثر بوده است (Golubkina *et al*., 2020).

در تحقیقی دیگر نتیجه گرفتند که کاربرد مایکوریزا باعث تغییراتی در غلظت فیتوهورمون‌های گیاهی از جمله جیبرلیک اسید، سایتوکینین و اسید جاسمونیک به‌وجود آورده و این فیتوهورمون‌ها باعث توسعه‌ی غده‌های ترشح‌کننده اسانس را افزایش و در نتیجه تولید متابولیت‌های ثانویـه را افـزایش داده اسـت (Kapoor *et al*., 2007). در تحقیقـی کاربرد اسید هیومیک و کودهای آلی، باعـث افـزایش در وزن خشـک اندام هوایی و عملکرد اسانس گیاه مـرزه (*Satureja khuzistanica* (*Jamzad* شـد (Alizadeh Ahmadabadi *et al*., 2016). در تحقیق دیگری کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش درصد اسـانس در گیـاه دارویـی سـیاهدانه (*Nigella sativa* L.) (Azizi & Safaii, 2017) شد که با نتـایج ایـن تحقیـق همخـوانی دارد. کـاربرد اسـید هیومیک از طریق اثرات هورمونی و تأثیرآن بر متابولیسم سلول‌هـای گیاهی و از سویی دیگر با داشتن قدرت کلات‌کنندگی و افزایش جذب عناصرغذایی همچون نیتروژن و فسفر سبب افزایش در رشـد گیـاه و اسانس گیاهان می‌گـردد. بـا افـزایش میـزان اسـانس در اثـر کـاربرد هیومیک اسید، با توجه به این‌که اسانس‌ها، ترکیبات ترپنوئیدی بوده و بیوسـنتز واحـدهای سـازنده آن‌هـا (ایزوپرونوئیـدها) نیازمنـد

وجود NADPH وATP است و از سویی حضور عناصری همچون فسفر نقش مهمی در ساختارهای سازنده اسانس‌ها همچون دی‌متیل‌آلیل‌پیروفسفات و ایزو پنتیل پیروفسفات دارند (Farooqi, Shabih, & Sangwan, 2001)، هیومیک اسید از طریق فراهم‌آوری جذب بیشتر نیتروژن و فسفر موجب افزایش در میزان اسانس پیکر رویشی گیاه می‌گردد. با توجه به نتیجه به‌دست‌آمده می‌توان چنین گفت که بین اسید هیومیک و مایکوریزا یک هم‌افزایی برای افزایش در درصد و عملکرد اسانس وجود دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد قارچ مایکوریزا و تغذیه برگی اسید هیومیک، هرکدام به دلیل خصوصیات ویژه‌ای که دارند در بهبود رشد و عملکرد گیاه دارویی آویشن باغی موثر بوده است. درصد و عملکرد اسانس بیشترین تاثیر را از تیمارهای انجام‌شده داشتند و بیشتر از ۲۰۰ درصد افزایش در اثر کاربرد هر دو تیمار حاصل شد. با افزایش در درصد و عملکرد اسانس و با بررسی ترکیبات اسانس، مشخص گردید که دو ترکیب عمده اسانس آویشن که تیمول و کارواکرول بودند نیز با اعمال تیمار اسید هیومیک به‌ترتیب ۱۲ و ۱۶ درصد و با اعمال تیمار مایکوریزا به‌ترتیب ۱۹ و ۲۷ درصد افزایش داشتند و از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که کیفیت اسانس آویشن تحت این شرایط بهبود پیدا کرده است. در بین مایکوریزاهای مورد استفاده در این پژوهش نیز کاربرد مایکوریزا *G.mosseae* کاراتر از دو مایکوریزای دیگر بر صفات مورد بررسی اثرگذار بود.

سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از اعتبارات دانشگاه پیام نور انجام شده است.

References

1. Ahmadzadeh, M., Sedaghati, E., Sabri-Riseh, R., Rahimi, A., Hatami, N., & Mohammadi Mirik, A. A. (2021). Evaluation of root mycorrhizal colonization and uptake of some microelements by *Zea mays* root treated with some organic compounds and microbial inoculation. *Agricultural Engineering*, *44*(2), 141-158. https://doi.org/10.22055/AGEN.2021.36868.1602
2. Akbari, I., & Gholami, A. (2016). Evaluation of Mycorrhizal Fungi, Vermicompost and Humic Acid on Essence Yield and Root Colonization of Fennel. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *13*(4), 840-853. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/GSC.V13I4.42567
3. Akbari, T., Rostami, M., Ghabooli, M., & Movahedi, Z. (2021). Effect of piriformospora indica on reducing the negative effects of salinity stress in lemon balm (*Melissa officinalis*). *Crop Science Research in Arid Regions*, *2*(2), 219-229. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22034/CSRAR.2021.265529.1077
4. Alavi Asl, S. A., Majidian, M., Modares Sanavy, S. A. M., & Esfahani, M. (2023). Effect of Wood Vinegar and Humic Acid on Morphological and Biochemical Traits, Antioxidant Enzymes, and Essential Oil of Peppermint (*Mentha piperita* L.) under Water Deficit Stress Conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *54*(3), 163-176. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijfcs.2023.356625.654990
5. Alizadeh Ahmadabadi, A., Khorasaninejad, S., & Hemti, K. (2016). *Effect of Drought Stress and Humic Acid on Content Phenol, Flavonoid and Antioxidant of Purple coneflower* (*Echinacea purpurea*). The first national conference of medicinal, aromatic and spicy plants. Gonbad Kavus University. 2016.
6. Alizadeh, A., Najafi, F., Hadian, J., & Salehi, P. (2018). Effect of different levels of humic-acid and vermicompost extract on growth, yield, morphological and phytochemical properties of *Satureja khuzistanica* Jamzad. *Journal of Agroecology*, *10*(1), 69-80. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jag.v10i1.47161
7. Almeida, D. J., Alberton, O., Otênio, J. K., & Carrenho, R., (2020). Growth of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and production of essential oil stimulated by arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Rhizosphere*, *15*, 100208. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100208
8. Al-Saif, A. M., Sas-Paszt, L., Awad, R. M., & Mosa, W. F. A. (2023). Apricot (*Prunus armeniaca*) Performance under Foliar Application of Humic Acid, Brassinosteroids, and Seaweed Extract. *Horticulturae*, *9*(4), 519. https://doi.org/10.3390/horticulturae9040519
9. Amani Machiani, M., Javanmard, A., Ostadi, A., Aghaee, A., & Rasouli, F. (2021b). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and harvesting time on the macro- and micronutrients and antioxidant enzymes activity of thyme (*Thymus Vulgaris* L.) in the different irrigation levels. *Plant Process and Function*, *10*(44), 235-250. (in Persian with English abstract).
10. Amani Machiani, M., Javanmard, A., Ostadi, A., Morshedlou, M., & Chabokpour, J. (2021a). Effects of harvest time and mycorrhiza fungus application on quantitative and qualitative yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil at different irrigation levels. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 36(6), 1022-1037. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2021.351323.2835
11. Arjmand Alavi, M., Hatamzadeh, A., & Ehteshami, S. M. (2014). Effect of bulb inoculation with four species

mycorrhizal fungi on quantitative and qualitative yield of two lily species. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, *1*(2), 57-65. (in Persian with English abstract).

12. Auge, R. M., Stodola, A. J. W., Tims, J. E., & Saxton, A. M. (2001). Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil*, *230*, 87-97.
13. Azimi, R., Jangju, M., & Asghari, H. (2014). The effect of mycorrhiza inoculation on the initial establishment and morphological characteristics of the thyme medicinal plant in natural conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *11*(4), 666-676. (in Persian). https://doi.org/10.22067/GSC.V11I4.32903
14. Azizi, M., & Safaii, Z. (2017). The Effect of Foliar Application of Humic Acid and Nano Fertilizer (Pharmks®) on Morphological Traits, Yield, Essential Oil Content and Yield of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Horticultural Science*, *30*(4), 671-680. (in Persian). https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.41136
15. Baum, C., El-Tohamy, W., & Gruda, N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Scientia Horticulturae*, *187*, 131-141. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.002
16. Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N., & Zhang, L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1-15. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068
17. Boutasknit, A., Baslam, M., Ait-El-mokhtar, M., Anli, M., Ben-Laouane, R., Douira, A., Modafar, C. E., Mitsui, T., Wahbi, S., & Meddich, A. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi mediate drought tolerance and recovery in two contrasting carob (*Ceratonia siliqua* L.) ecotypes by regulating stomatal, water relations, and (in) organic adjustments. *Plants*, *9*, 1-19. https://doi.org/10.3390/plants9010080
18. Canellas, L. P., Olivares, F. L., Canellas, N. O., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2019). Humic acids increase the maize seedlings exudation yield. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *6*(1), 1-14. https://doi.org/10.1186/s40538-018-0139-7
19. Csongor, B., Viktória, L. B., Erika, K., Béla, K., Dávid, U. N., Péter, S., Giuseppe, M., Luigi, M., Judit, K., Dóra, P., & Györgyi, H. (2023). Flowering phenophases influence the antibacterial and anti-biofilm effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil. BMC Complementary. *Medicine and Therapies*, *23*, 168. https://doi.org/10.1186/s12906-023-03966-1
20. Dordas, C. A., & Sioulas, C. (2008). Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. *Industrial Crops and Products*, *27*(1), 75-85.
21. Doskocil, L., Szewieczková, J. B., Enev, V., Kalina, L., & Wasserbauer, J. (2018). Spectral characterization and comparison of humic acids isolated from some European lignites. *Fuel*, *213*, 123-132. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.10.114
22. Golubkina, N., Logvinenko, L., Novitsky, M., Zamana, S., Sokolov, S., Molchanova, A., Shevchuk, O., Sekara, A., Tallarita, A., & Caruso, G. (2020). Yield, essential oil and quality performances of Artemisia dracunculus, Hyssopus officinalis and Lavandula angustifolia as affected by arbuscular mycorrhizal fungi under organic management. *Plants*, *9*, 1-16. https://doi.org/10.3390/plants9030375
23. Gorgini Shabankareh, H., Khorasani nejad, S., Sadeghi, M., & Tabasi, A. (2018). Effect of irrigation cycle and humic acid on morphophysiological and biochemical properties of thyme medicinal plant. *Journal of Plant Environmental Physiology*, *13*(51), 67-82. (in Persian).
24. Haghir Ebrahimabadi, A., Hatami, M., Karimzadeh Asl, Kh., & Ghorbanpour, M. (2018). Effect of Mycorrhizal Fungi and Biophosphor Fertilizer on Growth Features, Yield and Yield Components, and Essntial Oil Constituents in *Cuminum cyminum* L. *Journal of Medicinal Plants*, *17*(2), 74-91. (in Persian with English abstract).
25. Hammoudi Halat, D., Krayem, M., Khaled, S., & Younes, S. (2022). A focused insight into thyme: Biological, chemical, and therapeutic properties of an indigenous Mediterranean herb. *Nutrients*, *14*(10), 2104. https://doi.org/10.3390/nu14102104
26. Kapoor, R., Chaudhary, V., & Bhatnagar, A. (2007). Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza*, *17*(7), 581-587. https://doi.org/10.1007/s00572-007-0135-4
27. Kormanik, P. P., & McGraw, A. C. (1982). Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In Methods and Principles of Mycorrhizal Research (N. C. Schenck, Ed.). pp. 37-45. American Phytopathological Society, st Paul
28. Lotfollahi, A., Bolandnazar, S., Aliasgharzad, N., Khoshru, B., & Siami. A. (2020). Effects of Inoculation with Arbuscular Mycorrhiza and Mycorrhiza-Like Fungi on Growth and Phosphorus Uptake of Coriander. *Scientific Research Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production*, *31*(1). 87-101. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22034/SAPS.2021.12791
29. Mafakheri, S., & Asghari, B. (2018). Effect of Seaweed Extract, Humic Acid and Chemical Fertilizers on Morphological, Physiological and Biochemical Characteristics of *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20, 1505-1516.
30. Mohammadi Nia Samakoush, A., Moradi, H., & Akbarpour, V. (2022). Investigating the effect of humic acid

treatment on antioxidant capacity, phenol and photosynthetic pigments of the medicinal plant *Artemisia annua* L. under salt stress. *Scientific Research Journal of Plant Ecophysiology*, *13*(46), 2-14. (in Persian).

31. Monda, H., McKenna, A. M., Fountain, R., & Lamar, R. T. (2021). Bioactivity of Humic Acids Extracted From Shale Ore: Molecular Characterization and Structure-Activity Relationship with Tomato Plant Yield under Nutritional Stress. *Frontiers in Plant Science*, *12*. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.660224
32. Morshedloo, M. R., Maggi, F., Neko, H. T., & Aghdam, M. S. (2018). Sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit: essential oil variability in Iranian populations. *Industrial Crops and Products*, *111*, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.002
33. Mortazaei, S., Rafieian, M., Ansary Samani, R., & Shahinfard, N. (2012). Comparison of Phenolic Compounds Concentrations and Antioxidant Activity of Eight Medicinal Plants. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, *12*(7), 519-530.
34. Mousavi, S. A. H., Barzegar, T., Nekounam, F., Ghahremani, Z., & Khani, A. (2022). The effect of humic acid on physiological characteristics, antioxidant activity and yield of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) under deficit irrigation. *Plant Process and Function*, *12*(54), 171-185. (in Persian).
35. Naji, Z., Babaakbari Sari, M., Vaezi, A., & Ahmadi, Sh. (2020). The Effect of Different Levels of Polyacrylic and Humic Acid on Aggregates Stability and Soil Moisture Content of Saline and Sodic Soils. *Iran Water and Soil Research*, *52*(1), 15-24. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijswr.2020.286599.668281
36. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, *34*, 1527-1536.
37. Nasiri Dehsorkhi, A., Makarian, H., Varnaseri Ghandali, V., & Salari, N. (2018). Investigation of effect of humic acid and vermicompost application on yield and yield components of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Applied Research in Field Crops*, *31*(1), 93-113. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/AJ.2018.121407.1277
38. Saadi Moghaddam, S., Javanmard, A., Morshedloo, M. R., & Nouraein, M. (2020). Effect of integrated application of biological and chemical fertilizers on the quality and quantity traits of dragon's head (*Lallemantia iberica*) under rainfed condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *51*(2), 459-477. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijhs.2019.273123.1578
39. Sabbagh, S., Sarafraz, M., Taheri, M., & Bolok, H. (2020). Effect of glomus intraradices fungus on enzymatic activities and growth condition of seven wheat genotypes. *Crop Science Research in Arid Regions*, *2*(1), 43-53. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22034/csrar.2020.119122
40. Sabouri, F., Sirousmehr, A., & Gorgini Shabankareh, H. (2018). Effect of irrigation regimes and application of humic acid on some morphological and physiological characteristics of Savory (*Satureja hortensis* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, *9*(34), 13-24. (in Persian with English abstract).
41. Sanchez, F. J., Manzanares, M., de Andres, E. F., Tenorio, J. L., & Ayerbe, L. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research*, *59*(3), 225-235. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00125-7
42. Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F., & Sangwan, R. S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, *34*, 3-21.
43. Siddiqui, M. H., Oad, F. C., & Jmaro, M. G. H. (2006). Emergence and nitrogen use efficiency of maize under different tillage operation and fertility levels. *Asian Journal of Plant Sciences*, *5*(3), 508-510. https://doi.org/10.3923/ajps.2006.508.510
44. Silva, A. S., Tewari, D., Sureda, A., Suntar, I., Belwal, T., Battino, M., Nabavi, S. M., & Nabavi, S. F. (2021). The evidence of health benefits and food applications of *Thymus vulgaris* L. *Trends in Food Science & Technology*. *117*, 218-227. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.010
45. Stefanaki, A., & Andel, T. van. (2021). *Mediterranean aromatic herbs and their culinary use*. Aromatic herbs in food bioactive compounds, processing, and applications. 93-121. Publisher: Elsevier. Aromatic Herbs in Food. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822716-9.00003-2
46. Tabrizi, L., Mohammadi, S., Delshad, M., & Moteshare Zadeh, B. (2015). The Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Yield of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) under Lead and Cadmium Stress. *Environmental Science Quarterly*, *13*(2), 37-48.
47. Taheri Asghari, M. (2021). Effect of seed inoculation with Mycorrhiza fungi and leaf application of amino acid on some qualitative and herbaceous properties of pot marigold. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, *9*(3), 57-71. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22124/jms.2022.6164
48. Tarraf, W., Ruta, C., Tagarelli, A., De Cillis, F., & De Mastro, G. (2017). Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of Salvia officinalis L. *Indian Journal Crop Products Process*, *102*, 144-153. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.010
49. Weisany, W., Raei, Y., Salmasi, S. Z., Sohrabi, Y., & Ghassemi-Golezani, K. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi induced changes in rhizosphere, essential oil and mineral nutrients uptake in dill/common bean intercropping system. *Annals of Applied Biology*, *169*(3), 384-397. https://doi.org/10.1111/aab.12309

50. Yadegari, M. (2022). Effects of NPK, botamisol, and humic acid on morphophysiological traits and essential oil of three Satureja species under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *38*(1), 61-80. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2022.356264.3073
51. Yadegari, M. (2022a). Effects of NPK complete fertilizer, botamisol, and humic acid on morphophysiological characteristics and essential oil in three Thymus species under drought stress conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *38*(2), 301-321. https://doi.org/10.22092/IJMAPR.2022.357303.3119
52. Yazdan panah gohari, A., Ghanbari jahromi, M., & Zarrin nia, V. (2021). Effect of Some Mycorrhizal Fungi Species on Quantitative and Qualitative Properties of Two Landraces of Chicory in Greenhouse Conditions. *Journal Crop Improv*, *24*(2), 527-544. https://doi.org/10.22059/jci.2021.314730.2484
53. Yousefi, M., Enteshari, Sh., & Saadatmand, M. (2014). Effects of silica treatment on some morphological, anatomical and physiological characteristics of Iranian borage (*Echium amoenum* Fisch & C.A. Mey). *Soil Culture Research Center*, *5*(2), 83-94. (in Persian).
54. Zhang, F., Zou, Y. N., & Wu, Q. S. (2018). Quantitative estimation of water uptake by mycorrhizal extraradical hyphae in citrus under drought stress. *Scientia Horticulturae*, *229*, 132-136. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.038
55. Zhishen, J., Mencheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*, 555-559. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2